

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**

**ESCUELA DE POSGRADO**



**TESIS DE MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN**

**BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**

**ANÁLISIS METAGENÓMICO DE LAS COMUNIDADES  
MICROBIANAS DE DRENAJES ÁCIDOS DE MINA E  
IDENTIFICACIÓN DE GENES Y PROTEÍNAS DE UN  
CONSORCIO DE BACTERIAS REDUCTORAS DE SULFATO  
CON POTENCIAL BIORREMEDIADOR**

**Blga. VERÓNICA EDITH LIZA TRUJILLO**

**TUMBES, PERÚ**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**

**ESCUELA DE POSGRADO**



**TESIS DE MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN**

**BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**

**ANÁLISIS METAGENÓMICO DE LAS COMUNIDADES  
MICROBIANAS DE DRENAJES ÁCIDOS DE MINA E  
IDENTIFICACIÓN DE GENES Y PROTEÍNAS DE UN  
CONSORCIO DE BACTERIAS REDUCTORAS DE SULFATO  
CON POTENCIAL BIORREMEDIADOR**

**Blga. VERÓNICA EDITH LIZA TRUJILLO**

**TUMBES, PERÚ**

2019

**DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD**

Yo Verónica

Edith

Liza

Trujillo declaro que los resultados reportados en esta tesis, son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo, declaro que hasta donde yo sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto donde se reconozca como tal a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de mi propia autoría. Declaro, finalmente, que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mis asesores de tesis y jurado calificador, en cuanto a la concepción y al estilo de la presentación o a la expresión escrita.

-----  
Blga. Verónica Edith Liza Trujillo

## ACTA DE REVISIÓN Y DEFENSA DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
Tumbes - Perú

### ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

En Tumbes, a los diecisiete días del mes de noviembre del año dos mil dieciocho, a las 8:00 a.m. horas, en Auditorio de la Escuela de Posgrado-Ciudad Universitaria, se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 088-2018/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila - Presidente; Mg. Ricardo Williams Saldoya Tinedo - Secretario; Ph. D. Vima Alexia Cedeño Escobar - Vocal y con Resolución Directoral N° 0175-2018/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: Análisis metagenómico de las comunidades microbianas de drenajes ácidos de mina e identificación de genes y proteínas de un consorcio de bacterias reductoras de sulfato con potencial biorremediador, presentada por la egresada del Programa de Maestría en Biotecnología Molecular Br. Verónica Edith Liza Trujillo, asesorada por el Ph. D. Eric Louis Mialhe Matonnier.

Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran: Sobresaliente, dando cumplimiento al Art. 29° del Reglamento de Investigación con fines de Graduación en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 9:00 a.m. horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.

Tumbes, 17 de noviembre de 2018.

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila  
Presidente

Mg. Ricardo Williams Saldoya Tinedo  
Secretario

Ph. D. Vima Alexia Cedeño Escobar  
Vocal

## RESPONSABLES

Blga. Verónica Edith Liza Trujillo

-----

EJECUTOR

Ph. D. Eric Louis Mialhe Matonnier

-----

ASESOR

## JURADO DICTAMINADOR

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila

-----  
PRESIDENTE

Mg. Ricardo Williams Saldoya Tinedo

-----  
SECRETARIO

Ph. D. Virna Alexia Cedeño Escobar

-----  
VOCAL

## **AFILIACIÓN INSTITUCIONAL DE LOS AUTORES**

**ANÁLISIS METAGENÓMICO DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DE DRENAJES ÁCIDOS DE MINA E IDENTIFICACIÓN DE GENES Y PROTEÍNAS DE UN CONSORCIO DE BACTERIAS REDUCTORAS DE SULFATO CON POTENCIAL BIORREMIADOR**

**METAGENOMIC ANALYSIS OF THE MICROBIAL COMMUNITIES OF ACID MINE DRAINAGES AND IDENTIFICATION OF GENES AND PROTEINS OF A CONSORTIUM OF SULPHATE REDUCING BACTERIA WITH A BIORREMIATOR POTENTIAL**

Verónica Edith Liza Trujillo<sup>1\*</sup>, Melitza de Lourdes Cornejo La Torre<sup>2</sup>, Carlos Enrique Cubas Zuñiga<sup>1</sup>, Francis Jesús More Calero<sup>1</sup>, Rosita Tanyelisbet Castillo Rogel<sup>1</sup> y Eric Louis Mialhe Matonnier<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes, Perú.

<sup>2</sup> Cooperativa de trabajadores BIOTECOOP, Tumbes, Perú.

<sup>3</sup> INCA BIOTEC S.A.C, Tumbes, Perú.

\*Autor para correspondencia:

Email Verónica Edith Liza Trujillo: veronicalizat@gmail.com

Email Melitza de Lourdes Cornejo La Torre: melitzacornejo01@gmail.com

Email Carlos Enrique Cubas Zuñiga: carloscubaszuniga92@gmail.com

Email Francis Jesús More Calero: francisjmorecalero@gmail.com

Email Rosita Tanyelisbet Castillo Rogel: rosiat.castillorogel@gmail.com

Email Eric Louis Mialhe Matonnier: ericmialhe@yahoo.fr

Los autores declaran que no presentan conflicto de intereses.

Proyecto de investigación fue financiado por la empresa Incabiotec SAC, el programa de maestría en Biotecnología Molecular, convenio N° 000190-2015-FONDECYT y la Universidad Nacional de Tumbes.

## RESUMEN

Los drenajes ácidos de mina se caracterizan por su pH extremadamente ácido, altas concentraciones de sulfatos y metales pesados que constituyen un problema ambiental. El objetivo de este estudio fue caracterizar por metagenómica la comunidad microbiana presente en los drenajes ácidos de una mina de oro, así como los microorganismos con capacidad biorremediadora. Las muestras de drenaje ácido se obtuvieron de pozas de sedimentación, PS-1 y PS-2 (pH: 1.99 y 2.38, respectivamente), sus zonas de infiltración, ZI-1 y ZI-2 (pH: 2.02 y 2.90, respectivamente) y una quebrada natural adyacente a las pozas de sedimentación (pH: 2.95). El ADN de cada muestra fue extraído y se secuenció la región V4 del gen ADNr 16S mediante la plataforma illumina. Las secuencias obtenidas fueron procesadas y analizadas por el software QUIIME. La comunidad microbiana estuvo representada principalmente por los géneros *Metallibacterium*, *Leptospirillum*, *Acidiphilium*, *Acidibacillus* y *Acidithiobacillus* (PS-1 y ZI-1). *Leptospirillum*, *Acidiphilium*, *Sulfobacillus*, *Ferroplasma*, *Thermoplasma*, *Metallibacterium*, *Ferrimicrobium*, *Ferrithrix*, *Acidithiobacillus* y *Acidisphaera* (PS-2 y ZI-2). Además, se encontró que *Desulfosporosinus*, bacteria reductora de sulfato, aunque en muy baja abundancia es un género compartido en todas las muestras de drenajes ácidos. A través de cultivos de enriquecimiento y, mediante técnicas de PCR y espectrometría de masas se identificó el gen sulfito reductasa desasimilatorio y la enzima sulfato adenyltransferasa, claves en la reducción de sulfato llevada a cabo por esta bacteria. Estos resultados mostraron que microorganismos relacionados a la oxidación de compuestos de minerales de sulfuro son predominantes, a su vez los microorganismos reductores de sulfato podrían ser potenciados para ser usados en la bioremediación de drenajes ácidos.

**Palabras clave:** Metagenómica, diversidad microbiana, pozas de sedimentación, relaves mineros, bacterias reductoras de sulfato.



## ABSTRACT

Acid mine drainages are characterized by their extremely acid pH, high concentrations of sulfates and heavy metals constituting one environmental problems. The objective of this study was to characterize by metagenomics the microbial community present in gold mine acid drainages, as well as microorganisms with bioremediating capacity. The samples were obtained from sedimentation ponds, PS-1 and PS-2 (pH 1.99 and 2.38, respectively), its infiltration zones, ZI-1 and ZI-2 (pH 2.02 and 2.90, respectively) and a natural creek adjacent to the sedimentation ponds (pH 2.95). DNA of each acid drainage sample was extracted and the V4 region of the 16S rDNA gene was sequenced by the Illumina platform. The sequences obtained were processed and analyzed by QUIIME software. The microbial community was represented by members of genera *Metallibacterium*, *Leptospirillum*, *Acidiphilium*, *Acidibacillus* and *Acidithiobacillus* (PS-1 y ZI-1). *Leptospirillum*, *Acidiphilium*, *Sulfobacillus*, *Ferroplasma*, *Thermoplasma*, *Metallibacterium*, *Ferrimicrobium*, *Ferrithrix*, *Acidithiobacillus* and *Acidisphaera* (PS-2 y ZI-2). In addition, it was found that *Desulfosporosinus*, a sulfate-reducing bacterium, despite being in very low abundance, is a shared genus in all samples of acid drainages. It is so, through enrichment cultures and by PCR techniques and mass spectrometry, it was possible to identify the sulfite reductase dissimilatory gene and sulfate adenylyltransferase enzymes, keys in the reduction of sulfate carried out by this bacterium.

These results showed that microorganisms related to the oxidation of sulfide mineral compounds are predominant; in turn, the sulfate-reducing microorganisms could be enhanced to be used in the bioremediation of acid drainages.

**Keywords:** Metagenomics, microbial diversity, sedimentation ponds, mining tailings, sulfate reducing bacteria.